



Développement et  
**amélioration des plantes**



# Etude de l'expression de gènes impliqués dans la régulation du stress oxydatif chez *Hevea brasiliensis*

**Leclercq J., Gebelin V.\*, Martin F., Lardet L., Rio M., Chabaud M., Ayar A.  
and Montoro P.**

CIRAD : Département des Systèmes Biologiques

UMR : Développement et Amélioration des Plantes

Equipe : Biologie cellulaire et moléculaire de la réponse aux stress



# L'hévéaculture : un enjeu socio-économique mondial



- *Hevea brasiliensis* : seul arbre exploité à l'échelle industrielle pour la production de **caoutchouc naturel**
- **Production mondiale** : 8,8 M de tonnes (5kg/arbres/an)  
majoritairement en Asie du Sud Est  
(Thaïlande, Indonésie, Malaisie, Vietnam, ...)

- **Caoutchouc naturel** : Matière première renouvelable  
Valorisation du bois  
Moins de mobilisation des ressources fossiles  
Réhabilitation et protection des sols dégradés

## Amélioration du rendement et de la productivité :

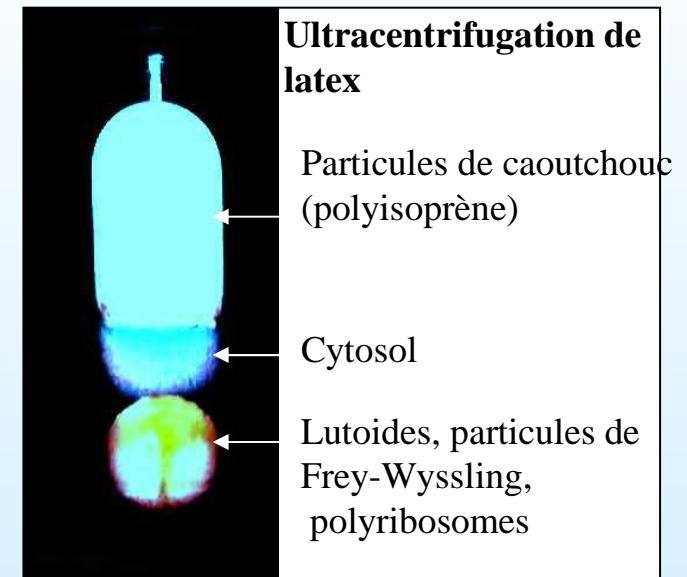
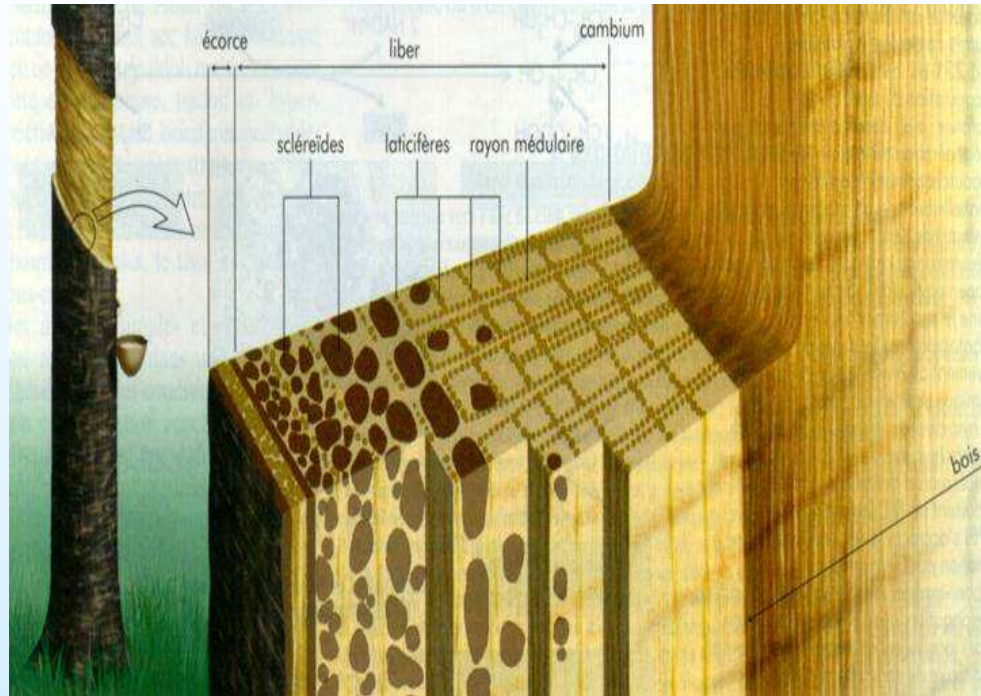
- Programme de sélection
- Système d'exploitation : saignée et traitement par l'Ethrel®
- Nouveau type matériel pour plantation

## Extension des zones de culture :

- Recherche sur la tolérance au froid et à la sécheresse.



# *Hevea brasiliensis* & le système laticifère



- Cellules spécialisées = les laticifères
- Latex = cytoplasme des laticifères

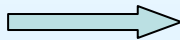


## Écoulement et régénération du latex : 2 facteurs limitant de la production

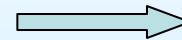
*Stimulation par l'Ethrel®*

*ou ethylene gaz*

Régénération  
In-situ du latex



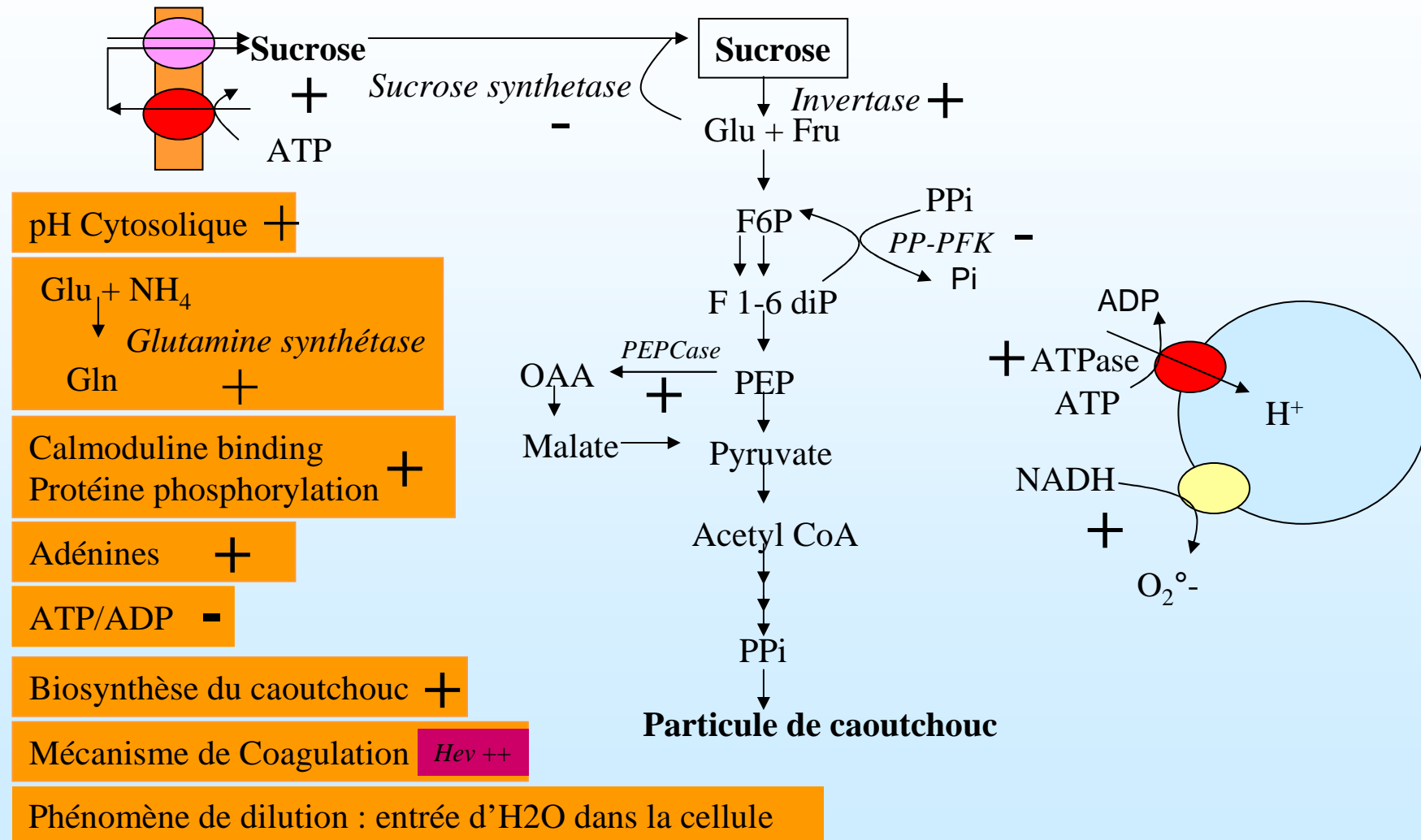
Écoulement  
du latex



Production



# Stimulation du métabolisme des cellules laticifères par l'éthylène (d'Auzac et al. 1989)



→ Augmentation de la durée d'écoulement



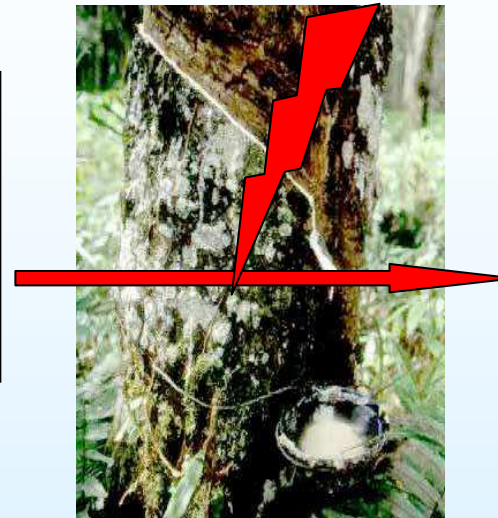


# Facteur limitant de la productivité: le stress oxydatif

Sur-exploitation

Sur-stimulation

Stress abiotiques



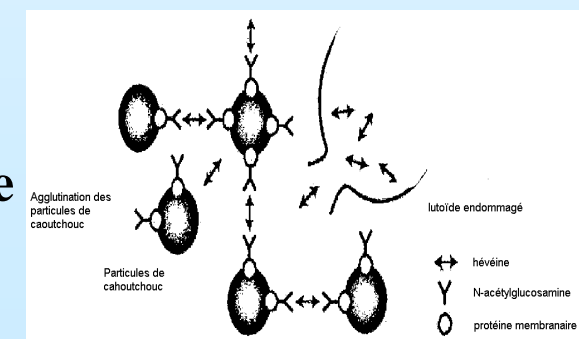
Baisse de l'écoulement du latex  
(coagulation)

→ **Encoche sèche** (réversible)

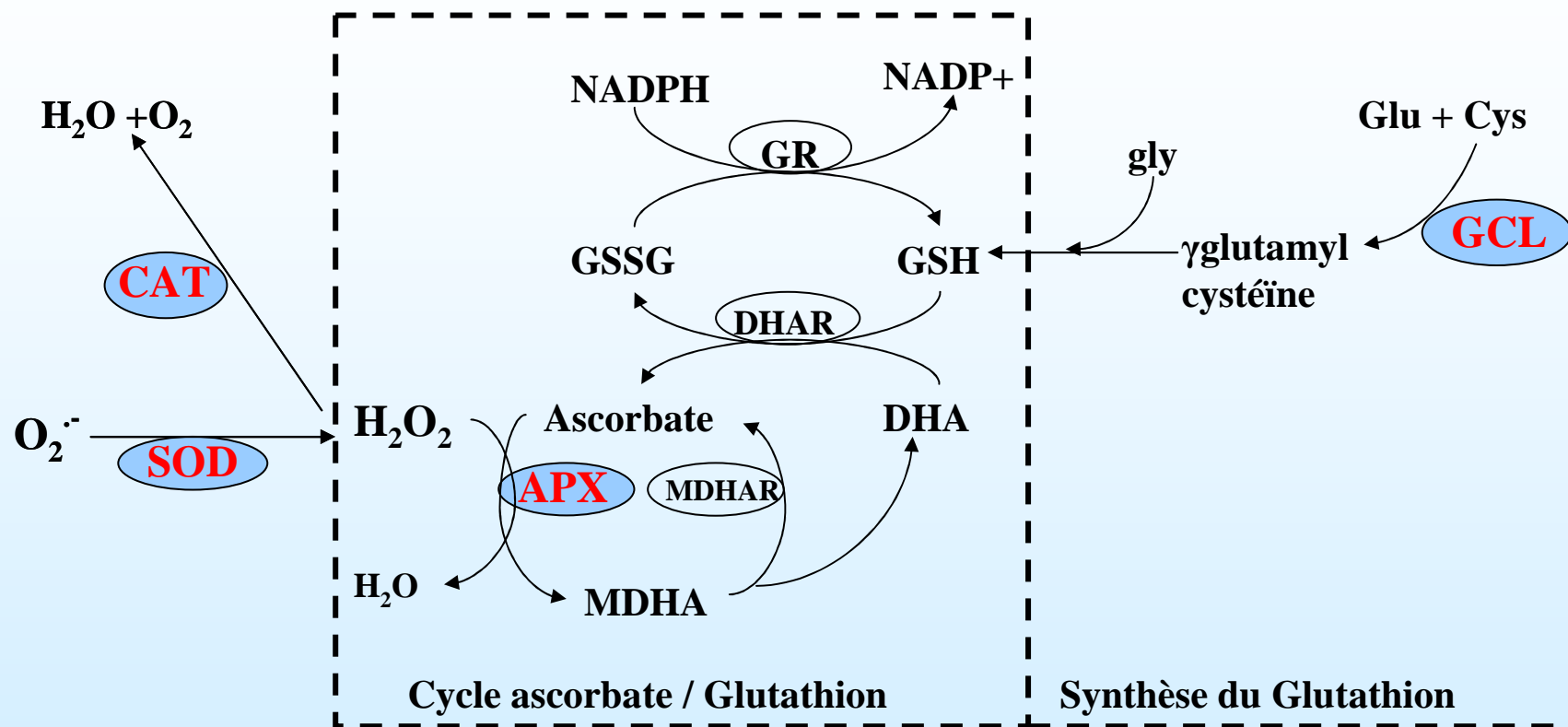
→ **Nécrose corticale** (irréversible)

## stress oxydatif :

- ➡ augmentation de la production d'**Espèces réactives de l'oxygène** ( $^1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\cdot\text{OH}$ )
- ➡ désorganisation des membranes des lutoïdes
- ➡ libération des agents coagulants notamment l'**hévéine**
- ➡ agglutination des particules de caoutchouc
- ➡ coagulation du latex



# Système de détoxication et gènes candidats



Monodehydroascorbate  
Dehydroascorbate  
Glutathion oxydé  
Glutathion réduit

MDHA  
DHA  
GSSG  
GSH

**Superoxide dismutase**

**Ascorbate peroxidase**

Monodehydroascorbate reductase

Dehydroascorbate reductase

Glutathion reductase

**Catalase**

**Glutamyl-cystéine ligase**

**SOD**

**APX**

MDHAR

DHAR

GR

**CAT**

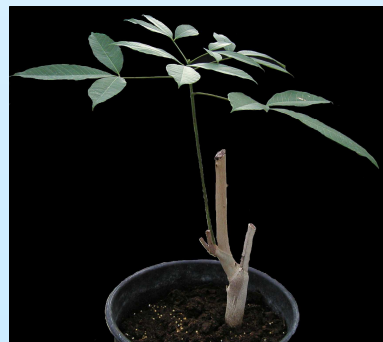
**GCL**



## Caractérisation de gènes potentiellement impliqués dans la tolérance au stress oxydatif

**Objectif final : Amélioration de la productivité des arbres en augmentant leur système de détoxification des formes toxiques d'oxygène.**

- **Comprendre et évaluer l'état de stress de la plante :**
  - Caractérisation moléculaire de plusieurs gènes impliqués dans la tolérance au stress oxydatif (*CuZnSOD*, *MnSOD*, *GCL* cytosolique, *catalase*, *APX*) en réponse à divers traitements (éthylène, blessure)
  - Caractérisation des 3 clones : PB260, PB217, RRIM 600
- **Corriger éventuellement les déficiences du système de détoxification par transgénèse**
  - transformation génétique avec gènes candidats.



- **Modèle d'étude : plants greffés**




# **Vers la caractérisation moléculaire de plusieurs gènes impliqués dans la tolérance au stress oxydatif**


Etude d'expression génique par RT-PCR semi-quantitative et RT-PCR en temps réel

## Expression différentielle des gènes étudiés en réponse au stress d'exploitation.

		PB260		PB217	RRIM600
		RT-PCR	Q-PCR	Q-PCR	Q-PCR
<i>CuZnSOD</i>	Photosynthèse	0	+	+	+
	Ethylène	+	+	+	-
	Blessure	+	-	-	nd
<i>CAT</i>	Photosynthèse	+	+	+	+
	Ethylène	0	-	-	0
	Blessure	+	-	-	nd
<i>MnSOD</i>	Photosynthèse	+	+	+	+
	Ethylène	0	-	-	+
	Blessure	+	+	+	nd
<i>APX1</i>	Photosynthèse	+	+	+	+
	Ethylène	0	0	-	0
	Blessure	+	+	-	nd
<i>GCL cyto</i>	Photosynthèse	0	nd	nd	nd
	Ethylène	+	+	+	+
	Blessure	+	-	-	nd

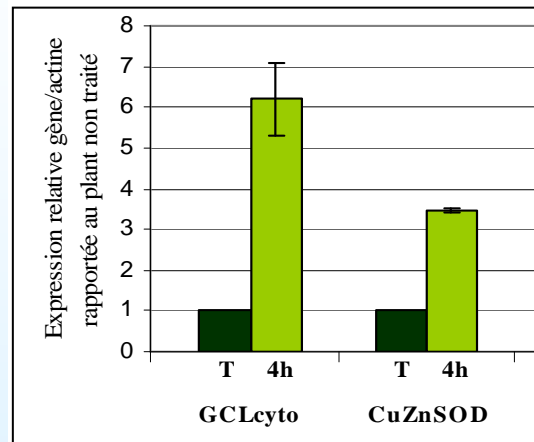
➡ Expression différentielle d'un gène en réponse à ≠ traitements 

➡ Expression différentielle des gènes en réponse à un traitement 

➡ Expression différentielle d'un gène en fonction du clone 



## Stimulation de l'expression des gènes *CuZnSOD* et *GCL cytosolique* en réponse à un traitement éthylénique chez le clone PB260



Analyse par RT-PCR semiquantitative sur feuille et 2 répétitions biologiques: bonne reproductibilité.

	PB260		PB217	RRIM600
	RT-PCR (2repet)	Q-PCR (1repet)	Q-PCR (1repet)	Q-PCR (1repet)
<i>CuZnSOD</i>	+	+	+	-
<i>CAT</i>	=	-	-	=
<i>MnSOD</i>	=	-	-	+
<i>APX1</i>	=	=	-	=
<i>GCL cyto</i>	+	+	+	+

- Résultats de RT-PCR confirmés par Q-PCR pour *CuZnSOD* et *GCL cyto*.
- Stimulation de l'expression de ces deux gènes pour les clones PB260 et PB217.
- Profils d'expression différent pour RRIM600 : répression du gène *CuZnSOD*.

Deux gènes candidats pour la transformation génétique : *CuZnSOD* et *GCL cytotologique*

# Vers l'amélioration de la tolérance au stress oxydatif par transformation génétique.

Surexpression du gène *CuZnSOD* dans des plants transgéniques chez *Hevea brasiliensis*.





ERROR: ioerror  
OFFENDING COMMAND: image  
STACK: